

сти их лечения препаратом омега-3 полиненасыщенных жирных кислот у больных в течение года после инфаркта миокарда // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2011. — Т. 10, № 5. — С. 57-62.

4. Курбанов Р.Д., Муллабаева Г.У., Юлдашев Н.П., Кеворкова Ю.Г. Влияние Вальсартана на динамику постинфарктного ремоделирования и желудочковой аритмии у больных с Q-волновым инфарктом миокарда // Патология кровообращения и кардиохирургия. — 2009. — № 2. — С. 59-63.

5. Куртасова Л.М., Савченко А.А., Шмидт А.Р. и др. Оценка метаболического состояния и функциональной активности иммунокомпетентных клеток у детей с рецидивирующей герпесвирусной инфекцией // Клиническая лабораторная диагностика. — 2003. — № 2. — С. 16-18.

6. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови человека биolumинесцентным методом // Лабораторное дело. — 1989. — №11. — С. 23-25.

7. Хлопина И.А., Шацова Е.Н., Добродеева Л.К. Характеристика иммунного ответа у больных ишемической болезнью сердца в отдаленные сроки после коронарного шунтирования // Экология человека. — 2006. — № 12. — С. 14-17.

8. Царегородцев Д.А., Гавва Е.М., Сулимов В.А. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты в лечении заболеваний сердечнососудистой системы // Кардиология. — 2010. — Т. 50, № 8. — С. 56-62.

9. Al-Dwairi A., Pabona J.M., Simmen R.C., Simmen F.A. Cytosolic malic enzyme 1 (ME1) mediates high fat diet-induced adiposity, endocrine profile, and gastrointestinal tract proliferation-associated biomarkers in male mice

// PLoS One. — 2012. — Vol. 7, № 10. — P. 46716.

10. Alber H.F., Frick M., Suessenbacher A., et al. Effect of atorvastatin on circulating proinflammatory T-lymphocyte subsets and soluble CD40 ligand in patients with stable coronary artery disease — a randomized, placebo-controlled study // Am. Heart J. — 2006. — Vol. 151, № 1. — P. 139.

11. De la Roche M., Tessier S.N., Storey K.B. Structural and functional properties of glycerol-3-phosphate dehydrogenase from a mammalian hibernator // Protein J. — 2012. — Vol. 31, № 2. — P. 109-119.

12. Ho H.Y., Cheng M.L., Chiu D.T. Glucose-6-phosphate dehydrogenase from oxidative stress to cellular functions and degenerative diseases // Redox Rep. — 2007. — Vol. 12, № 3. — P. 109-118.

13. Hohnloser S.H., Klingenhoben T., Zabel M., et al. Prevalence, characteristics and prognostic value during long-term follow-up of nonsustained ventricular tachycardia after myocardial infarction in the thrombolytic era // J. Am. Coll. Cardiol. — 1999. — Vol. 33. — P. 1895-1902.

14. Murugan S., Hung H.C. Biophysical characterization of the dimer and tetramer interface interactions of the human cytosolic malic enzyme // PLoS One. — 2012. — Vol. 7, № 12. — P. 50143.

15. Papa A., Emdin M., Passino C., et al. Predictive value of elevated neutrophil-lymphocyte ratio on cardiac mortality in patients with stable coronary artery disease // Clin. Chim. Acta. — 2008. — Vol. 395, № 1-2. — P. 27-31.

16. Podrid P.J., Myerburg R.J. Epidemiology and Stratification of Risk for Sudden Cardiac Death // Clin. Cardiol. — 2005. — Vol. 28 (Suppl. I). — P. I3-I11.

17. Stanton R.C. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell survival // Life. — 2012. — Vol. 64, № 5. — P. 362-369.

Информация об авторах: Савченко Андрей Анатольевич — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории, 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г, тел.: 8(391)2125263; e-mail: aasavchenko@yandex.ru;
Тоголашвили Николай Гамлетович — д.м.н., профессор, заведующий клиническим отделением, 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г, тел. (391)2568114, e-mail: gng1963@mail.ru;
Литвиненко Мария Викторовна — аспирант, e-mail: liev@mail.ru

© ПОЛУНИНА О.С., АХМИНЕЕВА А.Х., ВОРОНИНА Л.П., СЕВОСТЬЯНОВА И.В. — 2013
УДК 616.24-036.12+616.1-005.4

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ ПРИ СОЧЕТАНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Ольга Сергеевна Полунина, Азиза Халиловна Ахминеева,
Людмила Петровна Воронина, Ирина Викторовна Севостьянова
(Астраханская государственная медицинская академия, ректор — д.м.н., проф. Х.М. Галимзянов,
кафедра внутренних болезней педиатрического факультета, зав. — д.м.н., проф. О.С. Полунина)

Резюме. У 35 больных хронической обструктивной болезнью лёгких (ХОБЛ), у 35 больных ишемической болезнью сердца (ИБС) и у 40 пациентов с сочетанной патологией (ХОБЛ+ИБС) изучено содержание в плазме крови эндотелина-1 и натрийуретического пептида типа С во взаимосвязи с полиморфизмом гена эндотелиальной синтазы оксида азота. В группе больных с сочетанием ХОБЛ+ИБС наблюдалось статистически значимое преобладание 4a/4b генотипа — 80% пациентов. Установлено, что наличие 4a/4b генотипа обуславливает присоединение ИБС у больных ХОБЛ и создает условия для гиперпродукции эндотелина-1 при сочетании ХОБЛ+ИБС (13,55 пг/мл у пациентов с генотипом 4a/4b против 7,5 пг/мл у пациентов с генотипом 4b/4b, $p<0,001$), то есть увеличивает выраженность эндотелиальной дисфункции. Выявлено увеличение медианы уровня натрийуретического пептида типа С у пациентов с 4a/4b генотипом во всех исследуемых группах, кроме группы соматически здоровых лиц, где различия были статистически незначимы ($p=0,152$).

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, ишемическая болезнь сердца, полиморфизм гена эндотелиальной синтазы оксида азота, эндотелин-1, натрийуретический пептид типа С.

GENETIC AND BIOCHEMICAL PARALLELS IN COMBINATION OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE AND ISCHEMIC HEART DISEASE

O.S. Polunina, A.Kh. Akhmineeva, L.P. Voronina, I.V. Sevostyanova
(Astrakhan State Medical Academy, Russia)

Summary. The content of endothelium-1 and C-type natriuretic peptide in the blood plasma in conjunction with the gene polymorphism of endothelial nitric oxide synthase was studied in 35 patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD), 35 patients with ischemic heart disease (IHD) and in 40 patients with the diseases combination (COPD+IHD). In the group of patients with the COPD+IHD combination the statistically significant prevalence of the 4a/4b genotype (80% of patients) was observed. It was found that the 4a/4b genotype presence causes the IHD conjunction in patients with COPD and makes conditions for the endothelium-1 hyperproduction in the COPD+IHD combination (13.55 pg/ml in patients with 4a/4b genotype versus 7.5 pg/ml in patients with 4b/4b genotype, $p < 0.001$), i.e. it increases the endothelial dysfunction evidence. The increase of the C-type natriuretic peptide level median in patients with 4a/4b genotype was found out in all groups except the group of somatically healthy people, where the differences were statistically insignificant ($p = 0.152$).

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, ischemic heart disease, gene polymorphism of endothelial nitric oxide synthase, endothelium-1, C-type natriuretic peptide.

Хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ) и ишемическая болезнь сердца (ИБС) достаточно часто являются сопутствующими заболеваниями. В 62% наблюдений среди больных ХОБЛ старших возрастных групп выявлены сердечно-сосудистые заболевания, в том числе ИБС [2, 5]. Тандем сердечной и лёгочной патологии считается прогностически неблагоприятным вследствие взаимного отягощения течения заболеваний [4].

Актуальность проблемы сочетания ИБС и ХОБЛ указывает на необходимость изучения патогенетических особенностей возникновения и совершенствование диагностических мероприятий, в том числе и на микрососудистом уровне. Представляет интерес целенаправленное исследование влияния генетических детерминант на функциональное состояние сосудистого эндотелия.

Цель исследования: изучить полиморфизм гена eNOS при сочетании ишемической болезни сердца и хронической обструктивной болезни легких во взаимосвязи с биохимическими маркерами дисфункции эндотелия.

Материалы и методы

Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России в рамках реализации гранта Президента РФ по государственной поддержке молодых ученых-кандидатов наук за проект «Эндотелиальная дисфункция и оксидативный стресс в развитии респираторно-кардиальной коморбидности» (МК-5572.2013.7). Для выполнения поставленной цели в условиях ГБУЗ АО «ГКБ №4 имени В.И. Ленина» были обследованы пациенты с ХОБЛ 2-3 стадии ($n = 35$), пациенты с ИБС: стенокардией напряжения 2-3 функционального класса ($n = 35$) и пациенты с сочетанием ХОБЛ+ИБС ($n = 40$).

Определение натрийуретического пептида типа С в плазме крови осуществлялось методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческих тест-систем «NT-proCNP» («Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG», Австрия). Определение эндотелина-1 в образцах плазмы осуществлялось с помощью иммуноферментного набора для количественного определения («Biomedica», Германия). Генотипирование по полиморфному маркеру гена eNOS проводили на геномной ДНК, выделенной из цельной крови пациентов. Полиморфные участки гена eNOS амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции. Аллели полиморфного участка eNOS 4b/4a идентифицировали путем ПДРФ-анализа [1]. Фрагменты ДНК окрашивали бромистым этидием и визуализировали в УФ-свете на приборе UV-VIS IMAGER-II (США).

Проведение данного клинического исследования одобрено Региональным Независимым Этическим комитетом (заседание РНЭК от 17.09.2012, протокол №2). Поправок к исходному протоколу РНЭК не было.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи статистической программы STATISTICA 7.0, Stat Soft, Inc. Для проверки статистических гипотез при сравнении числовых данных в независимых группах ис-

пользовали критерий Манна-Уитни, при сравнении качественных данных — критерий хи-квадрат (χ^2) Пирсона [3].

Результаты и обсуждение

Нормально функционирующий эндотелий отличается непрерывная базальная выработка оксида азота (NO) с помощью эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) из L-аргинина. Это необходимо для поддержания нормального базального тонуса сосудов. На сегодня описан полиморфизм гена eNOS в 11 локусах. Среди исследованных полиморфных участков одним из наиболее значимых факторов риска развития сердечно — сосудистых заболеваний признан минисателлитный повтор в интроне 4 (eNOS 4a/4b полиморфизм). Минисателлит 4a/4b в 4-м интроне гена eNOS насчитывает 2 аллеля, состоящих из 4 или 5 тандемных повторов размером 27 пар нуклеотидов. Нормальный вариант содержит 5 повторов (обозначается как 4b), мутантный вариант содержит 4 повтора (4a). Влияние варианта 4a связано с нарушением экспрессии гена eNOS, что приводит к уменьшению выработки NO [1].

Мы изучили полиморфизм гена eNOS у пациентов с монозаболеванием (ХОБЛ, ИБС) и при сочетанной патологии (ХОБЛ+ИБС). Частота встречаемости 4a/4b генотипа в группе соматически здоровых лиц составила 37%, что было сопоставимо с частотой встречаемости 4b/4b генотипа — 63% ($\chi^2 = 1,22$; $df = 1$; $p = 0,296$). В группе больных ХОБЛ частоты встречаемости 4a/4b и 4b/4b генотипов составили 37% и 63% соответственно ($\chi^2 = 1,55$; $df = 1$; $p = 0,213$), что было сопоставимо с группой соматически здоровых лиц ($\chi^2 = 0,01$; $df = 1$; $p = 0,995$; $\chi^2 = 0,01$; $df = 1$; $p = 0,967$). В группе больных ИБС было выявлено преобладание 4a/4b генотипа, который выявлялся у 77% пациентов, против 4b/4b генотипа, встречавшегося у 23% пациентов ($\chi^2 = 7,11$; $df = 1$; $p = 0,008$). Также обращала на себя внимание статистически значимо ($\chi^2 = 4,26$; $df = 1$; $p = 0,039$) меньшая частота встречаемости 4b/4b генотипа в группе больных ИБС, по сравнению с группой соматически здоровых лиц, что подтверждает роль VNTR-полиморфизма (variable number of tandem repeats) в патогенезе ИБС.

В группе больных с сочетанием ХОБЛ+ИБС наблюдалось статистически значимое ($\chi^2 = 10,01$; $df = 1$; $p = 0,002$) преобладание 4a/4b генотипа, выявлявшегося у 80% пациентов, против 4b/4b генотипа, выявлявшегося у 20% пациентов данной группы. Кроме того, в группе больных с сочетанием ХОБЛ+ИБС было выявлено статистически значимое ($\chi^2 = 5,61$; $df = 1$; $p = 0,018$) уменьшение частоты встречаемости 4b/4b генотипа по сравнению с группой соматически здоровых лиц ($\chi^2 = 5,61$; $df = 1$; $p = 0,018$) и с группой больных ХОБЛ ($\chi^2 = 6,14$; $df = 1$; $p = 0,013$). В то же время различия с группой больных ИБС по частоте встречаемости 4b/4b генотипа были статистически незначимы ($\chi^2 = 0,06$; $df = 1$; $p = 0,808$).

При исследовании частоты встречаемости аллелей 4a и 4b гена эндотелиальной синтазы оксида азота в изучаемых группах было выявлено статистически значимое преобладание 4b аллеля в группе соматически здоровых лиц ($\chi^2 = 14,93$; $df = 1$; $p < 0,001$) и у больных

ХОБЛ ($\chi^2=19,28$; $df=1$; $p<0,001$). В то же время в группе больных ИБС ($\chi^2=2,45$; $df=1$; $p_0=0,117$) и группе больных с сочетанием ХОБЛ+ИБС ($\chi^2=2,14$; $df=1$; $p_0=0,143$) статистически значимого преобладания 4b аллеля получено не было. Увеличение доли 4a аллеля свидетельствует о его роли в патогенезе ИБС как при мононозологии, так и при развитии ИБС в качестве коморбидного заболевания при ХОБЛ, на что также указывает статистически значимое увеличение частоты встречаемости 4a аллеля в группе больных с сочетанием ХОБЛ+ИБС по сравнению с группой больных ХОБЛ ($\chi^2=4,48$; $df=1$; $p_4=0,034$).

Далее мы изучили уровень эндотелина-1 (ЭТ-1) у пациентов исследуемых групп в зависимости от генотипа (4a/4b и 4b/4b) гена эндотелиальной синтазы оксида азота. Во всех исследуемых группах у пациентов с генотипом 4a/4b уровень ЭТ-1 был статистически значимо (Mann-Whitney test) выше относительно пациентов с генотипом 4b/4b, что отражает увеличение продукции ЭТ-1 у лиц с VNTR-полиморфизмом. Так, у соматически здоровых лиц с генотипом 4a/4b уровень ЭТ-1 составил 3,7 [3,4; 5,9] пг/мл и был статистически значимо ($p=0,049$) выше, чем у пациентов с генотипом 4b/4b. В группе больных ХОБЛ у пациентов с генотипом 4a/4b уровень ЭТ-1 составил 8,3 [6,8; 10,4] пг/мл, что было статистически значимо выше относительно пациентов с генотипом 4b/4b ($p=0,011$). При сравнении с группой соматически здоровых лиц уровень ЭТ-1 в группе больных ХОБЛ был статистически значимо выше как у пациентов с генотипом 4a/4b ($p=0,001$), так и у пациентов с генотипом 4b/4b ($p=0,011$). В группе больных ИБС у пациентов с генотипом 4a/4b уровень был статистически значимо выше относительно пациентов с генотипом 4b/4b ЭТ-1, составил 11,7 [5,9; 21,4] пг/мл против 5,8 [5,2; 12,5] пг/мл ($p=0,001$). При сравнении с группой соматически здоровых лиц уровень ЭТ-1 в группе больных ИБС был статистически значимо выше как у пациентов с генотипом 4a/4b ($p=0,005$), так и у пациентов с генотипом 4b/4b ($p=0,012$).

В группе больных с сочетанием ХОБЛ+ИБС у пациентов с генотипом 4a/4b уровень ЭТ-1 составил 13,55 [7,4; 25,7] пг/мл, что было статистически значимо выше, чем у пациентов с генотипом 4b/4b — 7,5 [4,3; 10,1] пг/мл ($p<0,001$). При сравнении с группой соматически здоровых лиц уровень ЭТ-1 в группе больных ИБС был статистически значимо выше как у пациентов с генотипом 4a/4b ($p=0,005$), так и у пациентов с генотипом 4b/4b ($p=0,012$). У пациентов с сочетанием ХОБЛ+ИБС как при генотипе 4a/4b, так и при генотипе 4b/4b уровень ЭТ-1 был статистически значимо выше по сравнению с группой больных ХОБЛ ($p<0,001$; $p=0,022$ соответственно), но был сопоставим с уровнем ЭТ-1 в группе больных ИБС ($p=0,102$; $p=0,833$).

Таким образом, можно отметить влияние VNTR-полиморфизма на продукцию ЭТ-1 у соматически здоровых лиц, у пациентов с мононозологией и при сочетании ХОБЛ+ИБС. Установлено, что наличие 4a/4b генотипа у больных ИБС создает условия для увеличе-

ния продукции ЭТ-1 по сравнению с больными ХОБЛ, чего не наблюдается при 4b/4b генотипе. Кроме того, именно наличие 4a/4b генотипа обуславливает не только присоединение ИБС у больных ХОБЛ, но и создает условия для гиперпродукции ЭТ-1 у пациентов с коморбидным сочетанием ХОБЛ+ИБС, то есть увеличивает выраженность ЭД.

Изучив уровень натрийуретического пептида типа С (НУПС) у больных с респираторно-кардиальной коморбидностью (ХОБЛ+ИБС) в зависимости от генотипов (4a/4b и 4b/4b) гена эндотелиальной синтазы оксида азота, мы выявили статистически значимое (Mann-Whitney test) увеличение медианы уровня НУПС у пациентов с 4a/4b генотипом во всех исследуемых группах, кроме группы соматически здоровых лиц, где различия были статистически незначимы ($p=0,152$), при сохраняющейся тенденции к увеличению уровня НУПС у носителей 4a/4b генотипа. Это свидетельствует о влиянии VNTR-полиморфизма на продукцию НУПС.

При коморбидном сочетании ХОБЛ+ГБ VNTR-полиморфизм статистически значимо повышал выработку НУПС по сравнению с мононозологией. В группе больных ИБС у пациентов с генотипом 4a/4b уровень НУПС составил 19,0 [8,5; 44,7] пг/мл, что было статистически значимо выше по сравнению с пациентами с генотипом 4b/4b ($p<0,001$), где уровень НУПС составил 8,3 [7,7; 18,4] пг/мл. При сравнении с группой соматически здоровых лиц уровень НУПС в группе больных ИБС был статистически значимо выше как у пациентов с генотипом 4a/4b ($p<0,001$), так и у пациентов с генотипом 4b/4b ($p=0,001$). В группе больных с сочетанием ХОБЛ+ИБС у пациентов с генотипом 4a/4b уровень НУПС составил 18,4 [11,2; 46,8] пг/мл, что было статистически значимо выше по сравнению с пациентами с генотипом 4b/4b ($p<0,001$), где уровень НУПС составил 10,3 [7,9; 13,5] пг/мл. При сравнении с группой соматически здоровых лиц уровень НУПС в группе больных с сочетанием ХОБЛ+ИБС был статистически значимо выше как у пациентов с генотипом 4a/4b ($p<0,001$), так и у пациентов с генотипом 4b/4b ($p=0,001$). В группе больных ХОБЛ+ИБС с генотипом 4a/4b уровень НУПС был сопоставим с уровнем НУПС в группе больных ИБС ($p=0,557$) и в группе больных ХОБЛ ($p=0,054$). То есть присоединение ИБС у пациентов с ХОБЛ носителей 4a/4b не оказывает значимого влияния на продукцию НУПС, которая остается сопоставимой с мононозологией (ХОБЛ, ИБС), что подтверждалось при межгрупповом сравнении данных: Kruskal-Wallis ANOVA test ($H(df=2; n=72)=5,92$; $p_8=0,052$).

Резюмируя вышесказанное, хочется подчеркнуть, что сочетание двух нозологических форм (ХОБЛ+ИБС) оказывает негативное влияние на состояние микросудистого эндотелия. Эндотелиальная дисфункция при сочетании ХОБЛ+ИБС выражена в большей степени, чем при монопатологии и, по нашему мнению, может быть не только следствием, но и причиной развития данной коморбидной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов В.С. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины. — СПб.: Н-Л, 2009. — 528 с.
2. Калягин А.Н. Медицинская экспертиза больных с хронической обструктивной болезнью лёгких. // Заместитель главного врача. Лечебная работа и медицинская экспертиза. — 2012. — №3. — С. 26-36.
3. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицин-

ских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. — М.: МедиаСфера, 2002. — 312 с.

4. Тарасенко О.Ф. ИБС и ХОБЛ, патофизиологические особенности клиники и лечения: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2009. — 23 с.

5. Чучалин А.Г. Хроническая обструктивная болезнь легких и сопутствующие заболевания // Пульмонология. — 2008. — №2. — С. 5-14.

Информация об авторах: Полунина Ольга Сергеевна — д.м.н., заведующий кафедрой, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121, тел. (8512) 524143; Ахминеева Азиза Халиловна — к.м.н., доцент кафедры; Воронина Людмила Петровна — д.м.н., доцент кафедры; Севостьянова Ирина Викторовна — к.м.н., ассистент кафедры, e-mail: irina-nurzhanova@yandex.ru.